



در

منابع طبیعی شماره ۷۸، بهار ۱۳۸۷

پژوهش سبزیجات

مطالعه سیتوژنتیکی در دو گونه نعنا (*Mentha longifolia* و *Mentha spicata*)

• حسین زینلی

استادیار مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان اصفهان

• احمد ارزانی

استاد دانشگاه صنعتی اصفهان

• خورشید رزمجو

استاد دانشگاه صنعتی اصفهان

دانشیار دانشگاه صنعتی اصفهان

• محمد باقر رضایی

دانشیار موسسه جنگل‌ها و مراتع کشور

تاریخ دریافت: دی ماه ۱۳۸۵ تاریخ پذیرش: فروردین ماه ۱۳۸۶

Email: hoszeinali@yahoo.com

چکیده

تحقیقات سیتوژنتیکی در جنس *Mentha* نشان داده است که جنس *Mentha* یک گروه پلی پلوئیدی، با تعداد کروموزوم متنوع است. این وضعیت شناسایی تاکسونومیکی گونه‌های *Mentha* را با مشکل مواجه ساخته است. مطالعه تنوع سیتوژنتیک بر روی دوازده ژنوتیپ نعنا متعلق به دو گونه *Mentha longifolia* و *Mentha spicata* که در منطقه مرکزی ایران (کاشان، اصفهان و محلات) موجودند، اجرا گردید. مشخصات سیتوژنتیک همانند تعداد کروموزوم، طول و عرض کروموزوم، طول و عرض بزرگترین و کوچکترین کروموزوم و متوسط طول و عرض کل ژنوم محاسبه شدند. نتایج نشان داد که هر سه ژنوتیپ متعلق به گونه *M. longifolia* دارای تعداد کروموزوم $2n = 24$ بودند. در حالیکه ژنوتیپ‌های مورد مطالعه مربوط به گونه *M. spicata* از سطوح مختلف پلوئیدی از قبیل دیپلوئید، تریپلوئید و تتراپلوئید برخوردار بودند. بدین ترتیب نه ژنوتیپ متعلق به گونه *M. spicata* که در این مطالعه استفاده شدند در حقیقت سیتوتیپ‌های این گونه بوده‌اند. ژنوتیپ‌های شماره یک، چهار و هشت، دارای سطوح دی پلوئیدی، ژنوتیپ‌های شماره دو، سه، هفت و دوازده تریپلوئید و ژنوتیپ‌های شماره نه و ده دارای سطوح تتراپلوئید بودند. در بین ژنوتیپ‌های گونه *M. longifolia* متوسط طول کروموزوم‌ها از $56 / 0$ میکرون در ژنوتیپ شماره شش تا $93 / 0$ میکرون در ژنوتیپ شماره پنج متغیر بود. در بین ژنوتیپ‌های گونه *M. spicata* متوسط طول کروموزوم از $52 / 0$ میکرون در ژنوتیپ شماره دو تا $88 / 0$ میکرون در ژنوتیپ شماره هشت متغیر بود.

کلمات کلیدی: سیتوژنتیک، کروموزوم، طبقه‌بندی تاکسونومیکی، سیتوتیپ

Pajouhesh & Sazandegi No:78 pp: 34-40

Study of cytogenetic in *Mentha spicata* and *M. longifolia*

By: H. Zeinali, A. Arzani, Gh. Razmjoo, M.B. Rezaei

Isfahan Agriculture Research Center, Isfahan University of Technology and Research Institute of Forests and Rangelands

Several cytogenetic investigation suggested that *Mentha* is a group of polyploids, with different chromosome numbers reported for each of the several species. This may cause the taxonomic confusion among the species. This study was carried out to evaluate the cytogenetic properties of 12 genotypes belonging to *M. longifolia* and *M. spicata*, collected from central regions of Iran. Several cytogenetic characteristics such as number of chromosomes, average of chromosome length and width, the largest and smallest chromosome length and width and total chromosome length and width were recorded for each of genotype. Results showed the number of chromosome in three genotype of *M. longifolia* were 24. Also result of chromosome numbering showed that genotypes number 1, 4 and 8 of *M. spicata* were diploid and genotypes number of 2, 3, 7 and 12 were triploid and genotypes number of 9 and 10 were tetraploid. Nine genotype of *M. spicata* representing three cytotypes including diploid, triploid, and tetraploid. Among the three genotype of *M. longifolia*, average length of chromosome ranged from 0.56 micron in genotype six to 0.93 micron in genotype number five. Among nine genotype of *M. spicata*, average length of chromosomes ranged from 0.52 micron in genotype number two to 0.88 in 8 genotype.

Key words: Cytogenetic, Chromosome, Taxonomical classification, Cytotype

مقدمه

متفاوت بوده‌اند، بطوریکه *M. spicata* دارای ۴۸ و ۳۶ $2n$ کروموزوم و *M. piperita* دارای ۸۴، ۷۲، ۶۸ $2n$ کروموزوم، و *M. arvensis* دارای ۹۲، ۶۴، ۹۰ $2n$ کروموزوم بودند. براساس این مشاهدات استنباط شده است که ممکن است پلی‌پلوئیدی شامل ژنوم‌های با تعداد پایه کروموزومی $x=12$ و مجموعه دیگری از تعداد کروموزوم‌های نامشخص باشد. Ikeda و همکاران (۶) با بررسی ۳۷ نمونه از ۱۱ گونه *Mentha* تنوع تعداد کروموزومی را در دامنه‌ای بین $2n=24$ تا $2n=120$ کروموزوم گزارش کرده‌اند و مشاهده نمودند که جنس *Mentha* مشتمل بر تعدادی گونه با سیتوتایپ‌های دی - تری - تترا - پنتا - هگزا - هپتا - اکتا و دکاپلوئید با تعداد پایه کروموزومی $x=12$ بوده‌اند. قابل ذکر است که ۶ تا از ۱۱ گونه مورد بررسی در جنس *Mentha* دارای دو یا تعداد بیشتری سیتوتایپ مختلف بودند و به عنوان مثال تعداد کروموزوم $4x$ ، $3x$ ، $2x$ و $4x+6x$ در گونه *M. spicata* و $6x$ ، $8x$ و $10x$ در گونه‌های *M. piperita* و *M. gentilis* مشاهده شده بودند (۲۰).

مطالعاتی که در ارتباط با روابط جغرافیایی و تنوع تعداد کروموزوم در گونه *M. arvensis* انجام شده است نشان داد که تعداد کروموزوم گونه *M. arvensis* که در کشورهای شرق و غرب اروپا و در کشورهای آسیایی رشد می‌کنند به ترتیب شامل $2n=72$ و $2n=96$ کروموزوم بوده، در صورتی که گونه *M. arvensis* که در آمریکای شمالی رشد می‌کند دارای سیتوتایپ‌های $2n=36$ ، 76 ، 96 عدد کروموزومی است (۵، ۱۲، ۱۷). Solti (۱۸) گزارش کرد که *M. longifolia* و *M. rotundifolia* به طور مورفولوژیک به قدر کافی متفاوت هستند که در دو گونه تاکرونومی مجزا قرار گیرند، در حالیکه از لحاظ تفاوت‌های ساختاری در کروموزوم‌های آنها در دو گروه قرار نمی‌گیرند، تنها مانعی که آنها را در دو گونه مجزا قرار داده

تعداد زیاد کروموزوم‌ها، کوچک بودن و روی هم قرار گرفتن آنها در صفحه متافازی تجزیه و تحلیل کاریوتیپ را در جنس *Mentha* با مشکل مواجه نموده است (۱۹). Harley و Brighton (۵) اندازه کروموزوم‌ها را در جنس *Mentha* در گستره طولی ۰/۵-۲ میکرون گزارش نمودند. بیشتر مطالعات تعداد کروموزوم‌ها را به عنوان خصوصیتی ثابت و مهم تکاملی دانسته و از آن به عنوان معیاری مناسب جهت جداسازی تاکسونی از تاکسون‌های دیگر نام برده اند (۲۰). در حالیکه چندین تحقیق سیتولوژیکی در جنس *Mentha* نشان داده است که این جنس یک گروه پلی‌پلوئیدی، با تعداد کروموزوم مختلف برای هر کدام از گونه‌های مورد مطالعه بوده است. این موضوع منجر به سردرگمی و پیچیدگی‌های تاکسونومیک گوناگونی آن شده است (۲۰). ضمن اینکه مطالعه روند تکاملی این جنس به لحاظ عواملی از قبیل تعداد کروموزوم متفاوت درون گونه‌های یکسان، ماهیت پلوئیدی (اتو یا آلوپلی پلوئیدی)، تعداد کروموزوم پایه متفاوت و نقش پلی‌پلوئیدی در تکامل آن با مشکل مواجه می‌باشد (۲۰).

Schurhoff (۱۴) با بررسی تعداد کروموزوم جنس *Mentha* گزارش نمود که جنس *Mentha* یک گروه پلی‌پلوئیدی است که از طریق چند برابر شدن عدد پایه کروموزومی ۹ ایجاد شده است. Ruttile (۱۳) تنوع وسیعی را در تعداد کروموزوم‌های جنس *Mentha* مشاهده نموده است و گزارش کرد که تعداد کروموزوم در این جنس در دامنه‌ای بین ۱۸ تا ۹۶ (۱۸، ۲۰، ۲۴، ۳۶، ۴۸، ۷۲، ۹۶ $2n$) متغیر بوده است و لذا تعداد پایه کروموزوم در زیر جنس *Menthastrum* از جنس *Mentha* را برابر با ۱۲ پیشنهاد کرد. Nagao (۹) با بررسی کروموزوم‌های سوماتیک نشان داد که تعدادی گونه‌های *Mentha* شامل چندین سیتوتایپ با تعداد کروموزوم

از آنجایی که ریشه‌های حاصل از ریزوم دارای کیفیت مناسبی جهت بررسی کروموزوم‌های متافازی نبودند. لذا جهت بدست آوردن ریشه‌های با کیفیت مناسب، ساقه‌های اصلی ژنوتیپ‌ها پونه سنبله‌ای و پودنه در مزرعه برداشت شدند و در محلول هیدروپونیک قرار گرفتند. پس از دو تا سه هفته ساقه‌ها ریشه‌دار شدند. ریشه‌های به طول ۷ تا ۸ میلی‌متر از هر ژنوتیپ در ساعت ۹ صبح برداشت شدند و در محلول آلفا برموفتالین اشباع به مدت شش ساعت پیش تیمار گردیدند.

پس از طی مدت شش ساعت پیش تیمار، ریشه‌ها به ظرف محتوای آب مقطر انتقال یافته و شستشو داده شدند. برای اینکه تعداد سلول‌های متوقف شده در مرحله متافاز بیشتر باشد شستشو به مدت ده دقیقه در آب یخ انجام گرفت. ریشه‌ها پس از شستشو با استفاده از کاغذ صافی خشک شدند و به محلول تثبیت لویتسکی منتقل گردیدند. از محلول لویتسکی به عنوان تثبیت کننده و جلوگیری از کوتاه شدن بیش از حد کروموزوم‌ها استفاده شد. این ماده مخلوطی از اسید کرومیک یک درصد و فرمالدئید ده درصد بود.

اسید کرومیک موجود در محلول، باعث اکسیداسیون اجزای ساختمانی کروموزوم‌ها و فرمالدئید موجب محکم شدن اجزاء کروموزوم‌ها شده و ساختمان کروموزوم‌ها را حفظ می‌کند. مدت زمان لازم برای تثبیت ۲۴-۴۸ ساعت بوده است. در این مطالعه مدت زمان، ۳۶ ساعت به‌عنوان بهترین زمان شناخته شد. مرحله تثبیت در یخچال با دمای ۴ درجه سانتی‌گراد انجام گرفت. پس از سپری شدن ۳۶ ساعت، ریشه‌ها به مدت ۳ ساعت با آب معمولی شستشو شدند. سپس ریشه‌ها به اتانول ۷۰ درصد منتقل گردیدند و در یخچال در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت نگهداری شدند. سپس ریشه‌ها از الکل خارج شده و به مدت نیم ساعت با آب مقطر شستشو شدند. پس از اینکه ریشه‌ها با استفاده از کاغذ صافی خشک گردیدند. جهت انجام عمل هیدرولیز مورد استفاده قرار گرفتند.

۱۰ تا ۱۵ میلی لیتر از محلول یک نرمال هیدروکسید سدیم را در داخل بشر ریخته، و در حمام بخار آب با دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. پس از رسیدن دمای محلول به ۶۰ درجه سانتی‌گراد ریشه‌ها به داخل محلول هیدرولیز منتقل گردیدند. در مطالعه حاضر ۱۷ دقیقه به‌عنوان بهترین زمان برای هیدرولیز تشخیص داده شد. پس از هیدرولیز، ریشه‌ها به مدت ۳۰ دقیقه در داخل ظرف آب مقطر شستشو داده شد. نیم ساعت قبل از رنگ آمیزی، رنگ استو-آهن هماتوکسیلین آماده شده از یخچال خارج شده و صاف گردید. سپس ریشه‌های با کمترین آب مزاد، در داخل رنگ قرار داده شدند. تعداد ریشه‌ها نبایستی بیش از ۵۰ درصد حجم رنگ را اشغال کند. پس از بستن درب لوله‌ها، شیشه‌های حاوی ریشه و رنگ در دمای ۲۵-۳۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. مدت زمان رنگ آمیزی متغیر بود، ولی در این بررسی، برای جلوگیری از رنگ شدن بیش از حد کروموزوم‌ها و نیز ممانعت از شکستن آن‌ها در زمان اسکواش، مدت ۱۶ ساعت رنگ آمیزی بهترین نتیجه حاصل شد. پس از رنگ آمیزی، ریشه‌ها حداقل برای نیم ساعت با آب مقطر شسته شدند جهت تهیه نمونه آماده شدند. یکی از نوکهای ریشه برداشته شد و روی یک لام تمیز قرار گرفت و یک قطره اسید استیک ۴۵ در صد به آن اضافه گردید. به وسیله یک سوزن طوری به نوک ریشه ضربه وارد گردید تا قطعات ریشه به صورت ذرات غبار و ریز روی اسید شناور شدند. بعد از آن یک لامل به آرامی روی قطره اسید استیک حاوی سلول‌ها گذاشته

است توزیع جغرافیایی آنها می‌باشد. *M. longifolia* از لحاظ جغرافیایی در آسیا انتشار دارد. ولی *M. rotundifolia* در اروپا کشت می‌شود. شمارش کروموزومی شش کلن *M. arvensis* که از لحاظ مورفولوژیک با هم تفاوت داشتند نشان داد که تعداد کروموزوم سوماتیک در این کلن‌ها از $2n=64$ تا $2n=108$ متغیر بوده است. سه کلن از کلن‌های بررسی شده شامل تعداد پایه کروموزومی $x=12$ بودند، ولی سه کلن دیگر شامل تعدادی آنیوپلوئید همانند $2n=98, 90, 64$ بودند. انواعی از آنیوپلوئیدی در معنا توسط چندین محقق گزارش شده است (۳، ۱۳، ۱۵، ۲۲). به هر حال مطالعه تنوع ژنتیکی با استفاده از نشانگرها از جمله نشانگرهای سینتوزنتیک برای اجرای طرح‌های به نژادی معنا ضروری است. هدف از این مطالعه مقایسه تعداد و مورفولوژی کروموزوم‌های ۱۲ ژنوتیپ معنا متعلق به دو گونه *M. spicata* و *M. longifolia* بوده است.

مواد و روش‌ها

الف- مواد ژنتیکی

مواد ژنتیکی شامل ۱۲ ژنوتیپ پونه سنبله ای و پودنه بود که از مناطق مرکزی ایران (کاشان، محلات، و اصفهان) جمع آوری شده بودند. نمونه‌های هرباریومی از دوازده ژنوتیپ پونه سنبله‌ای و پودنه تهیه شد و در بخش گیاه شناسی دانشکده کشاورزی، دانشگاه ساسکاتون^۱ واقع در ایالت ساسکاچوان کانادا شناسایی شدند. در مرکز تحقیقات کشاورزی اصفهان نگهداری و تکثیر شدند (جدول ۱).

از رنگ آمیزی استو-آهن هماتوکسیلین^۲ برای مطالعه کروموزوم‌های متافازی سلولهای مریستمی نوک ریشه استفاده گردید. مراحل اجرای روش استو آهن هماتوکسیلین به شرح زیر بوده است.

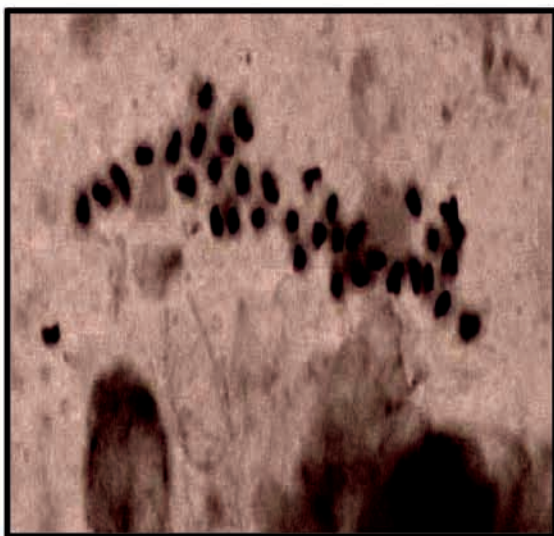
جدول ۱- نواحی جغرافیایی، شماره ژنوتیپ و نام علمی دوازده ژنوتیپ پونه

سنبله‌ای (*M. spicata*) و پودنه (*M. longifolia*)

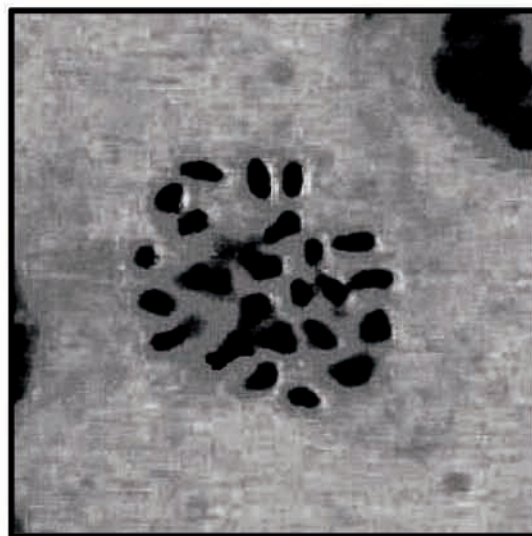
شماره ژنوتیپ	نام گونه شناسایی شده	منشا جغرافیایی
شماره یک	<i>M. spicata</i>	کاشان
شماره دو	<i>M. spicata</i>	کاشان
شماره سه	<i>M. spicata</i>	اصفهان
شماره چهار	<i>M. spicata</i>	اصفهان
شماره پنج	<i>M. longifolia</i>	کاشان
شماره شش	<i>M. longifolia</i>	اصفهان
شماره هفت	<i>M. spicata</i>	کاشان
شماره هشت	<i>M. spicata</i>	محلات
شماره نه	<i>M. spicata</i>	اصفهان
شماره ده	<i>M. spicata</i>	کاشان
شماره یازده	<i>M. longifolia</i>	کاشان
شماره دوازده	<i>M. spicata</i>	اصفهان

نهایت لام‌ها زیر میکروسکوپ نوری نیکون^۳ مدل Eclipse E6۰۰ مجهز به دوربین دیجیتال فوجی ایکس^۴ مدل ۳۰۰ZI-HC موردمشاهده قرار گرفته و متافازهای مناسب در زیرعدسی با بزرگ‌نمایی ۱۰۰ میکروسکوپ شناسایی شدند. با استفاده از دوربین که به میکروسکوپ ذکر شده متصل بود تصاویر با استفاده از نرم افزار فتوگرا^۵ ۴۰۰ زده در حافظه کامپیوتر ضبط گردید. تعداد کروموزوم، اندازه طول کروموزوم، عرض کروموزوم و طول کل ژنوم به

شد و با ضرباتی به چهار طرف لامل قطعات ریشه اسکواش کامل شدند. بلافاصله دو قطره محلول آقایف (شامل ۱۰ قسمت اسید استیک ۴۵ درصد و یک قسمت اسید لاکتیک خالص) چهار گوشه لامل اضافه شد. که پس از نفوذ به زیر لامل و خارج نمودن هوای زیر لامل، مقدار اضافی آن با کاغذ صافی خارج گردید. محلول آقایف از نفوذ هوا به مدت یک ساعت به زیر لامل جلوگیری نموده و فرصت مناسبی برای مطالعه نمونه‌ها فراهم می‌نماید. در



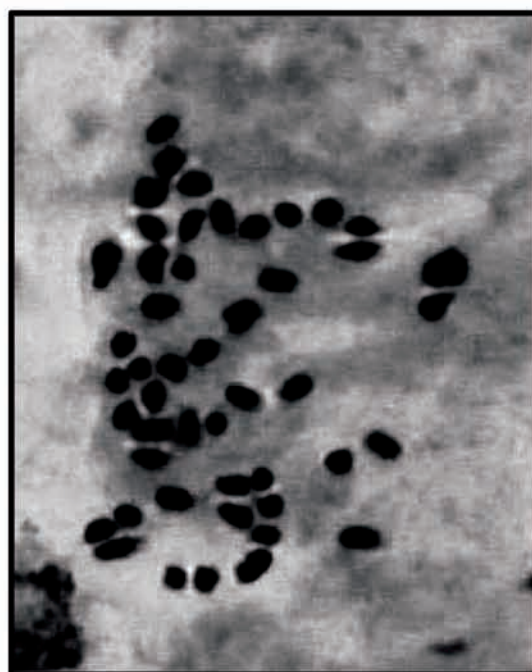
A- سیتو تایپ *M. Spicata* با ۳۶ کروموزوم



B- سیتو تایپ *M. longifolia* با ۲۴ کروموزوم



C- سیتو تایپ *M. spicata* با ۲۴ کروموزوم



D- سیتو تایپ *M. spicata* با ۴۸ کروموزوم

شکل ۱- سیتو تایپ‌های کروموزومی در دو گونه *M. longifolia* و *M. spicata*

جدول ۲- تعداد کروموزوم، آمار توصیفی طول کروموزوم در ژنوتیپ‌های پونه سنبله ای و پودنه (*M. longifolia* و *M. spicata*)

ژنوتیپ	۱	۲	۳	۴	۵	۶	۷	۸	۹	۱۰	۱۱	۱۲
تعداد کروموزوم	۲۴	۳۶	۳۶	۲۴	۲۴	۲۴	۳۶	۲۴	۴۸	۴۸	۲۴	۳۶
دامنه طول کروموزوم (میکرون)	۰/۹۶	۰/۳۹	۰/۵۶	۰/۹۹	۱/۰۹	۰/۳۹	۰/۷۸	۱/۱۳	۰/۶۳	۱/۳۵	۰/۶۴	۰/۵۳
کوچکترین طول کروموزوم (میکرون)	۰/۴۲	۰/۳۹	۰/۵۳	۰/۴۶	۰/۴۹	۰/۳۵	۰/۳۵	۰/۴۲	۰/۳۹	۰/۵۶	۰/۴۲	۰/۳۹
بزرگترین طول کروموزوم (میکرون)	۱/۳۸	۰/۷۸	۱/۰۹	۱/۴۵	۱/۵۸	۰/۷۴	۱/۱۳	۱/۵۵	۱/۰۲	۱/۹۱	۱/۰۶	۰/۹۲
مجموع طول کل کروموزوم (میکرون)	۱۷/۶۹	۱۸/۵۴	۲۵/۹۴	۱۵/۵۶	۱۹/۵۸	۱۲/۹۵	۲۴/۸۰	۲۱/۲۲	۲۸/۱۳	۳۸/۴۳	۱۴/۸۴	۱۸/۴۴
میانگین طول یک کروموزوم (میکرون)	۰/۷۴	۰/۵۲	۰/۷۲	۰/۶۸	۰/۹۳	۰/۵۶	۰/۷۱	۰/۸۸	۰/۵۹	۰/۸۲	۰/۶۲	۰/۵۶
انحراف معیار طول کروموزوم (میکرون)	۰/۲۷	۰/۰۹	۰/۱۵	۰/۳۲	۰/۳۳	۰/۱۲	۰/۲۰	۰/۳۶	۰/۱۳	۰/۲۶	۰/۱۸	۰/۱۵
ضریب تغییرات	۳۶/۵	۱۷/۳	۲۱/۰	۳۲/۳	۳۵/۵	۲۱/۴	۲۸/۲	۴۰/۹	۲۲/۰	۳۱/۷	۲۹/۰	۲۶/۸

جدول ۳- آمار توصیفی عرض کروموزوم در ژنوتیپ‌های پونه سنبله ای و پودنه (*M. longifolia* و *M. spicata*)

ژنوتیپ	۱	۲	۳	۴	۵	۶	۷	۸	۹	۱۰	۱۱	۱۲
دامنه عرض کروموزوم (میکرون)	۰/۵۰	۰/۳۲	۰/۵۳	۰/۸۹	۱/۰۹	۰/۴۶	۰/۶۳	۰/۸۱	۰/۶۰	۰/۹۹	۰/۴۶	۰/۴۶
کوچکترین عرض کروموزوم (میکرون)	۰/۲۸	۰/۳۲	۰/۴۲	۰/۴۲	۰/۳۵	۰/۲۵	۰/۳۲	۰/۳۲	۰/۳۵	۰/۴۶	۰/۳۲	۰/۳۲
بزرگترین عرض کروموزوم (میکرون)	۰/۷۸	۰/۶۴	۰/۹۵	۱/۳۱	۱/۴۱	۰/۷۱	۰/۹۵	۱/۱۳	۰/۹۵	۱/۴۵	۰/۷۸	۰/۷۸
مجموع عرض کل کروموزومها (میکرون)	۱۲/۴۱	۱۵/۶۱	۲۱/۳۶	۱۳/۷۵	۱۴/۵۴	۹/۵۱	۱۹/۴۶	۱۵/۸۴	۲۲/۵۰	۳۲/۸۳	۱۱/۹۰	۱۶/۰۳
متوسط عرض یک کروموزوم (میکرون)	۰/۵۲	۰/۴۳	۰/۵۹	۰/۵۹	۰/۶۹	۰/۴۱	۰/۵۷	۰/۶۶	۰/۴۷	۰/۷۰	۰/۴۹	۰/۴۸
انحراف معیار عرض کروموزوم (میکرون)	۰/۱۳	۰/۰۷	۰/۱۲	۰/۱۹	۰/۲۵	۰/۱۰	۰/۱۵	۰/۲۴	۰/۰۹	۰/۲۰	۰/۱۳	۰/۱۲
ضریب تغییرات (درصد)	۲۵/۰	۱۶/۳	۲۰/۳	۳۲/۳	۳۶/۲	۲۴/۴	۲۶/۳	۳۶/۴	۱۹/۱	۲۸/۶	۲۶/۵	۲۵/۰

طور تقریبی برای هر ژنوتیپ اندازه گیری گردید.
نتایج و بحث

برابر با ۱۹/۵۸، ۱۲/۹۵ و ۱۴/۸۴ میکرون بودند (جدول ۲). متوسط عرض کروموزومها در ژنوتیپ شماره پنج بیشتر از متوسط عرض کروموزومها در ژنوتیپ شماره شش و یازده بود (جدول ۳). دامنه تغییرات عرض کروموزوم در ژنوتیپهای شماره پنج، شش و یازده به ترتیب برابر با ۱/۰۹، ۰/۴۶ و ۰/۴۶ میکرون بوده است. پهن ترین کروموزوم در ژنوتیپ شماره پنج وجود داشت و عرض آن برابر با ۱/۴۱ میکرون بود. در حالیکه کم عرض ترین کروموزوم در ژنوتیپ شماره شش برابر با ۰/۲۵ میکرون بود (جدول ۳).

اطلاعات درباره آماره توصیفی کروموزومهای نه ژنوتیپ از گونه *M. spicata* در جداول دو نشان داد که مجموع طول کروموزومها در بین ژنوتیپهای گونه *M. spicata* از ۱۵/۵۶ میکرون در ژنوتیپ شماره چهار تا ۳۸/۴۳ میکرون در ژنوتیپ شماره ده متغیر بوده است. بزرگترین کروموزوم در ژنوتیپ شماره ده و کوچکترین کروموزوم در ژنوتیپ شماره هفت مشاهده شد. بیشترین دامنه تغییرات طول کروموزوم به ژنوتیپ شماره ده و کمترین آن به ژنوتیپ شماره دو تعلق داشت. متوسط طول کروموزوم در بین نه ژنوتیپ از ۰/۵۲ میکرون در ژنوتیپ شماره دوتا ۰/۸۸ میکرون در ژنوتیپ هشت متغیر بود.

متوسط عرض کروموزوم در بین ژنوتیپهای گونه *M. spicata* از ۰/۴۳ میکرون در ژنوتیپ شماره دوتا ۰/۷۰ میکرون در ژنوتیپ شماره ده متغیر بود. مجموع عرض کروموزومها در بین ژنوتیپها از ۱۲/۴۱ میکرون در ژنوتیپ شماره یک تا ۳۲/۸۳ میکرون در ژنوتیپ شماره ده متفاوت بود (جدول ۳).

پاورقیها

- 1-Saskatoon
- 2-Aceto- iron -hamatoxylin
- 3- Nikon
- 4-Digital fujix
- 5-Photograb-400 Z
- 6-Cytotypes

منابع مورد استفاده

- ۱- خسروی، احمد رضا. ۱۳۷۵؛ تاکسونومی گیاهی و سیستماتیک زیستی، انتشارات دانشگاه شیراز، شیراز.
- ۲- معصومی، علی اصغر. ۱۳۶۴. گوناگونی و پیدایش انواع گیاهان عالی، اصول بنیادی سیستماتیک مدرن، انتشارات واحد فوق برنامه بخش فرهنگی دفتر مرکزی جهاد دانشگاهی.
- 3- Bienvenu, F., L. Peterson and J. Edwards. 1990; Native and Scotch Spearmint oil production in Tasmania and Victoria, A report for the rural industries research and development corporation, RIRDC publication, 99:147.
- 4- Chambers, H., and K.E. Hummer. 1994; Chromosome counts in the mentha collection at the USDA-ARS national clonal germplasm repository, Taxon, 43, pp. 423-432.
- 5- Harley, R. M. and C.A. Brighton. 1997; Chromosome numbers in the genus mentha. J.Linn. Soc. Bot., 74, 71-96.

نتایج مطالعات سیتوژنتیکی دوازده ژنوتیپ پونه سنبله‌ای و پونده در جداول ۲ و ۳ خلاصه شده است. شمارش تعداد کروموزومهای متافازی دوازده ژنوتیپ پونه سنبله‌ای و پونده متعلق به دو گونه *M. longifolia* و *M. spicata* نشان داد که ژنوتیپهای شماره پنج، شش و یازده از گونه *M. longifolia* دارای ۲۴ کروموزوم و به صورت دیپلوئید بوده اند (جدول ۲ و شکل ۱). Chambers و Hummer (۴)، Harley و Brighton (۵) تعداد کروموزومهای گونه *M. longifolia* را ۲۴ و ۴۸ و عدد پایه کروموزومی آن را ۱۲ گزارش نمودند. به نظر می‌رسد این گونه منشاء اولیه گونه‌های تتراپلوئید و گونه‌های دیگر پونه سنبله‌ای باشد (۲۰، ۷). در ژنوتیپهای مورد مطالعه گونه *M. spicata* سطوح مختلف پلوئیدی از قبیل دیپلوئید، تریپلوئید و تتراپلوئید وجود داشت (جدول ۲ و شکل ۱). بنابراین به نظر می‌رسد که نه ژنوتیپ مورد استفاده از گونه *M. spicata* در حقیقت سیتوتیپهای گونه *M. spicata* باشند. نتایج نشان داد که ژنوتیپهای شماره یک، چهار و هشت دارای سطوح دیپلوئید، ژنوتیپهای شماره دو، سه، هفت و دوازده تریپلوئید و ژنوتیپهای شماره نه و ده دارای سطوح تتراپلوئید بودند. عموماً مرور تعداد کروموزوم گونه‌های خویشاوند مربوط به یک جنس خاص، مبین تعداد کروموزوم متفاوت آنهاست، که بیشترین تفاوت ناشی از پدیده پلی پلوئیدی است. به همین ترتیب در جنس *Mentha* این تفاوتها در حد بالائی وجود دارد، به نحوی که در آن گونه‌هایی با ۱۲۰، ۷۲، ۳۶، ۲۴ = ۲n کروموزوم گزارش گردیده است (۱۶). چنین گونه‌های به ترتیب به نام دیپلوئید، تریپلوئید، تتراپلوئید، هگزا پلوئید، اوکتا پلوئید و دکا پلوئید با عدد پایه ژنومی ۱۲ شناخته می‌شوند (۲۰). عدد پایه کروموزومی در ژنوتیپهای مورد مطالعه پونه سنبله‌ای (*M. spicata*) هماهنگ با گزارشات دیگران دوازده بود (۲۰، ۱۲، ۴). Chambers (۴) سطوح پلوئیدی ۲۴، ۳۶، و ۴۸ را برای گونه *M. spicata* گزارش نموده‌اند. نتایج تحقیقات گزارش شده در *Mentha* نشان می‌دهد که تعداد کروموزومها نه تنها از تنوع بین گونه‌ای برخوردار است بلکه دارای تغییرات درون گونه‌ای نیز می‌باشد (۴، ۱۲). دلایل ممکن برای تنوع موجود می‌تواند به لحاظ هیبریداسیون بین گونه‌ای و شرکت گرده‌های کاهش یافته و نیافته در تلاقی‌ها و تلاقی‌های برگشتی باشد (۸، ۱۰، ۱۱، ۲۲). Ahmad و Tygaj (۲۱) با تلاقی بین گونه‌ای *M. spicata* نر عقیم با ۷۲ کروموزوم و *M. piperita* نر بارور با ۱۲۰ کروموزوم تعدادی هیبرید با تعداد کروموزوم از ۳۶ تا ۱۱۵ کروموزوم را بدست آوردند و نتیجه گرفتند هیبرید با ۳۶ کروموزوم ممکن است از طریق سلول تخم هاپلوئید بارور نشده یا از باروری نرمال با حذف انتخابی کروموزوم بدست آمده باشد.

در بین ژنوتیپهای گونه *M. longifolia* متوسط طول کروموزومها از ۰/۵۶ میکرون در ژنوتیپ شماره شش تا ۰/۹۳ میکرون در ژنوتیپ شماره پنج متغیر بود (جدول ۲). بزرگترین کروموزوم در ژنوتیپهای شماره پنج، شش و یازده به ترتیب دارای طولی برابر با ۱/۵۸، ۰/۷۴ و ۱/۰۶ میکرون و کوچکترین کروموزوم در ژنوتیپهای پنج، شش و یازده به ترتیب دارای طولی برابر با ۰/۴۹، ۰/۳۵ و ۰/۴۲ میکرون بودند. بیشترین دامنه تغییرات طول کروموزوم به ژنوتیپ شماره پنج تعلق داشت (جدول ۲). مجموع طول کل کروموزومها در ژنوتیپهای شماره پنج، شش و یازده به ترتیب

- 6- Ikeda, N., S. Shimizu, D. Karasawa, T. Origasa, and S. Ono. 1970; *Mentha arvensis* L. var. *piperascens* Mal. Which grows wild in the north-eastern part of Japan II. The scientific Report of the Faculty of Agriculture, Okayama University, No.36, 1-11.
- 7- Ikeda, N., and S. Udo. 1966; Studies on *Mentha arvensis* L. Jap. J. Breed.16, 251- 259.
- 8- Morton, J.K. 1956; The chromosome number of the British mentha, *Watsonia*,3, 244-252.
- 9- Nagao, S. 1941; The number of chromosomes in some species and varieties of mentha, J. Sapporo Soc. Agric. Forestry, 33, 28-36.
- 10- Olssen, U. 1967; Chemotaxonomic analysis of some cytotypes in mentha *verticillata* complex, *Botaniska Nostiser*, 120, 255-267.
- 11- Ouweneel, W. J. 1968; Cytotaxonomic studies in the genus mentha in the Netherlands, *Proc. K. Nederlandse Academic van Wetenschappen*, 71,184-188.
- 12- Patra, N. K., H. Tanveer, N.K. Tyagi, and S. Kumar. 2000; Cyto- taxonomical, status and genetical and breeding perspectives of mentha, *J. of Medicinal and Aromatic Plant Sci.*, 22, 419-430.
- 13- Ruttle, M. L. 1931; Cytological and embryological studies on the genus mentha, *Cartenbauwissenschaft*, 4, 425-468.
- 14- Schurhoff, P. N. 1929; Zytologische und genetische untersuchungen an mentha und ihrebedeutung fur die pharmakognoise, *Arch. Pharm. Und ber. Deut. Pharma. Ges.*, 267, 515-526.
- 15- Sharma, A. K., and N.K. Bhattacharyya. 1959; Cytological studies on different species of *Mentha* with special reference to the occurrence of chromosomal biotypes, *Cytologia*, 24, 198-212.
- 16- Singh, T. P., A.K. Sharma. 1986; *Mentha*- taxonomic status as interpreted through cytology, genetics and phytochemistry, *Indian J. Genet.*, 46, 198-208.
- 17- Sobti, S. N., 1964. Induced polyploidy in the English black, *Curr. Sci.*,33, 149-153.
- 18- Sobti, S. N. 1969; Interspecific hybrid in the genus mentha, *Mentha longifolia* × *M. rotundifolia*, *Cytologia*, 36, 121-125.
- 19- Stebbins, G. 1950. *Chromosomal evolution in higher plants*, London, 1950.
- 20- Tsuchiya, T., and P.K. Gupta. 1991; *Chromosome engineering in plants: Genetics, breeding, evolution*, part B, Amsterdam.
- 21- Tyagi, B. R., and T. Ahmad. 1989; Chromosome number variation in an F1 interspecific hybrid progeny of mentha, *Cytologia*, Tokyo, 54, 355-358.
- 22- Tyagi, B. R., and A.A. Naqvi. 1987; Relevance of chromosome number variation to yield and quality of essential oil in *Mentha arvensis* L. *Cytologia*, 52, 377-385.

